

УДК 578.85/.86:632.9

Т. П. Супрунова¹, А. Н. Сахарова¹, Н. В. Маркин¹,
А. Н. Игнатов¹, С. Ю. Соловьев^{1,2},
Н. О. Калинина^{1,2}, М. Э. Тальянский^{1,3}

¹ ООО «МЛ «Резистом», 143026, Россия, г. Москва,
Сколково Инновационного Центра тер.,
Большой б-р, 42, стр. 1,
suprunova@gmail.com,

² НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского,
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
119991, Россия, г. Москва,

³ Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997 Россия, г. Москва

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ДЦРНК ДЛЯ ЗАЩИТЫ КАРТОФЕЛЯ

Ключевые слова: вирус картофеля Y, спрей-индуцированный сайленсинг генов, дсРНК.

Одна из важнейших продовольственных культур в мире, картофель (*Solanum tuberosum* L.) заражается многими вирусами, из которых вирус Y (*Potato virus Y, PVY*) имеет наиболее важное экономическое значение, вызывая существенные потери урожая [1]. Эффективных препаратов для защиты растений от вирусов практически не существует. Экзогенные дцРНК которые распространяются по растению локально и системно после процессинга в малые интерферирующие РНК, и индуцируют устойчивость растений к вирусам, опосредованную РНК-интерференцией, могут быть использованы в качестве биопестицидов [2]. Предложено несколько альтернативных способов доставки дцРНК, из них наиболее перспективным в настоящее время считается опрыскивание растений – спрей-индуцированный сайленсинг генов (spray-induced gene silencing, SIGS). Экзогенные интерферирующие дцРНК могут доставляться в растительные клетки прямо через кутикулу, или через морфологические структуры листа – устьица, трихомы и другие [3]. В этой связи важно отметить, что локально нанесенные дцРНК также ингибируют вирулентность патогена в не обработанных листьях [1, 3].

Частицы хитозана, функциолизованные дцРНК, были получены путем смешивания раствора хитозана, полученного растворением коммерческой формы хитозана в натрий-ацетатном буфере, с раствором триполифосфата. Двухцепочечная РНК с целевым фрагментом генома PVY получена путем выделения ее из бактериальной культуры *E. coli* штамма HT115, куда она была трансформирована в виде плазмидной ДНК pL4440-PVY [4]. Рабочая концентрация дцРНК, определенная методом Nwokeoji et al. [5], составляла примерно 200 нг/мкл. Растения сорта Лайонхарт (Дока-генные технологии, Московская обл.), содержащиеся при постоянной температуре 24°C и 16 ч освещении, были заражены изолятом вируса PVY-О (МГУ, Москва), и обработаны препаратом дцРНК (1,5 мл на растение). Были использованы 2 варианта заражения – за 1 день до заражения вирусом и через 3 дня после

заражения, и разные концентрации препарата. Накопление вируса в растениях выше инокулированных листьев определяли методом ИФА с коммерческими антителами компании Bioreba (Швейцария) на 14 и 21 день после заражения.

Полученные результаты показали высокий эффект профилактического применения дцРНК. Обработка исходной концентрацией дцРНК защитила 100% и 65% растений от размножения вируса в течение 14 и 21 дня соответственно, и 65% растений были защищены минимальной испытанной концентрацией (10 нг/мкл) в течении 14 дней. Терапевтическое применение дцРНК через 3 дня после инокуляции не оказало существенного воздействия на динамику накопления вируса в растениях.

Таким образом, в ходе проведенного эксперимента, нами продемонстрирована высокая биологическая антивирусная эффективность антивирусной дцРНК при профилактической обработке растений картофеля на фоне искусственного заражения растений вирусом PVY.

Проект «МЛ «Резистом» финансируется в соответствии с Соглашением о предоставлении гранта Фонда «Сколково», № Г18/19 от 26.04.19.

Список литературы

1. Макарова С. С., Макаров В. В., Тальянский М. Э., Калинина Н. О. // Журнал генетики и селекции. Т. 21. С. 62–73.
2. Морозов С. Ю., Соловьев А. Г., Калинина Н. О., Тальянский М. Э. // Acta Naturae (русскаяязычная версия). 2019. Т. 11. № 4(43). С. 13–21.
3. Wang M., Yu F., Wu W. et al. // International Journal of Biological Sciences. 2017. Vol. 13. P. 1497–1506.
4. Posiri P., Ongvarrasopone C., Panyim S. // Journal of Virological Methods. 2013. Vol. 188. P. 64–69.
5. Nwokeoji A. O., Kilby P. M., Portwood D. E., Dickman M. J. // Analytical Chemistry. 2017. Vol. 89. P. 13567–13574.